DAS VERHALTEN DER POLYENFETTSÄUREN IM SERUM VON RATTEN NACH ENDOTOXINGABE

Peter Römer

1972

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Universität München

Direktor : Prof. Dr. W. Seitz

DAS VERHALTEN DER POLYENFETTSÄUREN IM SERUM VON RATTEN NACH ENDOTOXINGABE.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Römer
aus München

München 1972

Mit Genehmigumg der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. D. Eberhagen

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.5.1972

UNIV. LEIDEN BIBL.

DISSERTATIONS – und FOTODRUCK FRANK oHG
8000 München 2 · Gabelsbergerstr. 15 · Tel.: 2 80 90 90

I N H A L T

Seite:

A. EINLEITUNG 1

Physiologische und pathophysiologische Bedeutung der Polyenfettsäuren.

Aufbau und Wirkungen der Endotoxine.

B. PROBLEMSTELLUNG 5

C. METHODIK 6

D. ERGEBNISSE 9

E. DISKUSSION 27

F. ZUSAMMENFASSUNG 32

G. LITERATUR 34

A. E I N L E I T U N G

Physiologische und pathophysiologische Bedeutung der Polyenfettsäuren :

Polyenfettsäuren sind Fettsäuren mit mehr als zwei Doppelbindungen. Ihre Struktur wurde vor allem von Klenk (1) aufgeklärt, der auch ihre Systematik aufstellte (2). Nach Klenk lassen sich alle in den Lipoiden vorkommenden ungesättigten Fettsäuren in solche vom Palmitolein-, Öl-, Linol- und Linolensäure-Typus einordnen. Die Struktur des Methylendes bestimmt demnach die Zugehörigkeit zur einen oder anderen Familie. Die olefinischen Bindungen sind, durch eine Methylengruppe isoliert, im Polyallyl-Rhythmus angeordnet.
Die Kohlenstoffketten der zu den ersten beiden Gruppen gehörenden Polyensäuren werden neu aufgebaut. Die C_{20}- und C_{22}-Polyenfettsäuren des Linol- und Linolensäure-Typus leiten sich jedoch von den für den tierischen Organismus essentiellen Fettsäuren Linol- und Linolensäure ab, aus denen sie durch Kettenverlängerung und Einführung weiterer Doppelbindungen gebildet werden.
Die Biosynthese der langkettigen, ungesättigten Fettsäuren wurde u. a. durch Stoffel (3) aufgeklärt. Er isolierte ein an die Membranen des endoplasmatischen Retikulums strukturgebundenes Multienzym, das nur langkettige Acyl-CoA-Thioester in Gegenwart von Malonyl-CoA verlängert.
Die olefinische Bindung kann nur homoallylständig zu einer

vorhandenen Doppelbindung in das Carboxyl-Ende des Polyensäuremoleküls eingebaut werden. Der Abbau der Polyensäuren erfolgt über einen erweiterten ß-Oxidationszyklus.

Der Hauptsyntheseort der höheren Fettsäuren ist die Leber, aber auch in der Nebenniere, der Niere, der Lunge, dem Darm, der Aorta und wahrscheinlich ebenso in der Milz findet eine endogene Synthese statt (4).

Im Blutplasma kommen die Polyenfettsäuren nur in geringem Maße als "freie Fettsäuren" an Albumin gebunden vor (5); der größte Teil tritt auf als Ester des Glycerins in Triglyceriden, Phosphatiden und Cholesterinestern, die Bestandteile aller Lipoproteide verschiedener Dichte, wie der Chylomikronen, der α- und ß-Lipoproteide sind (6,).

Über die Funktion der Polyenfettsäuren hat man schon mancherlei Hinweise. Als Ester der Glycerinphosphatide sind sie Bausteine von stoffwechselaktiven Membranen. Nach Untersuchungen von Green und Fleischer sollen sie durch Einschaltung in das mitochondrale, elektronenübertragende System an der Endoxidation und damit an der Bereitstellung von Energieträgern für endergone Prozesse teilnehmen (7). Sie sollen zur Ausübung wichtiger Mitochondrienfunktionen z. B. für die Cytochromoxidase (8) oder für die ß-Hydroxy-buttersäuredehydrogenase (9) erforderlich sein, und es wird angenommen, daß sie zur Aufrechterhaltung der räumlichen Anordnung in den enzymatischen Wirkungszentren bzw. zur Einstellung der kritischen Dielektrizitätskonstanten erforderlich sind (10).

Als Ester des Cholesterins nehmen die Polyensäuren an verschiedenen Stoffwechselvorgängen teil. Das Cholesterinarachidonat bzw. -dokosatetraenat stellt nach Untersuchungen japanischer Autoren und von Eberhagen die aktivierte Form des Cholesterins dar, über die die Synthese zu den Gallensäuren (11) und den Nebennierenrindenhormonen (12,13,14) verläuft.

Die Bedeutung der Polyenfettsäuren als essentielle Verbindungen für den tierischen Organismus haben erstmals Burr und Burr 1929 (15) an Versuchen mit Ratten erkannt. Fettfrei ernährte Ratten zeigen nach einiger Zeit Wachstumsverlangsamung, ringförmige Einkerbungen am Schwanz, Nekrose der Schwanzspitze, Hautveränderungen und bei weiblichen Tieren Störungen im Genitalzyklus, also schwere Schädigungen, die schließlich zum Tode der Tiere führen und durch Gaben von mehrfach ungesättigten Fettsäuren - am wirksamsten erwies sich die Arachidonsäure - wieder rückgängig gemacht werden können (16). Der Körper versucht in einer derartigen Lage andere Vorläufer als die Linol- bzw. die Linolensäure zur Synthese der hochungesättigten Fettsäuren einzusetzen und geht von der Öl- oder Palmitoleinsäure aus (17). Es kommt zur Anreicherung der $\Delta 5,8,11$-Eikosatriensäure in allen Geweben (18). In den Cholesterinestern findet sich ein hoher Quotient Eikosatrien- / Eikosatetraensäure > 1 (19). Diese Säure ist offenbar dann das Hauptsyntheseprodukt, doch hält der Organismus bei Mangelernährung einen Mindestbestand an

essentiellen Fettsäuren und ihren Abkömmlingen sehr fest gebunden, der dann wahrscheinlich nur auf die lebensnotwendigsten Strukturen verteilt ist (20). Auf Grund des Mangels an Arachidonsäure ist bei Mangeltieren sowohl die Corticoidgrundsekretion als auch der Corticoidausstoß nach ACTH-Gabe gegenüber Kontrolltieren stark erniedrigt (21).

Aufbau und Wirkungen von Endotoxinen :

Die folgenden Ausführungen stützen sich vor allem auf die Übersicht von E. Atkins 1960 (22). Endotoxine sind ein Komplex von hochmolekularen phosphorylierten Lipopolysacchariden, die frei von Stickstoff sind und toxische und antigene Wirkungen zeigen (23). Die Folgen einer Endotoxininjektion sind mannigfaltig wie z.B. Leukozytose, Hyperlipidämie, Lymphozytenschädigungen, Glykogenolyse, Hyperglykämie und Fieber. Die Fieberreaktionen treten unterschiedlich als mono- oder biphasisches Fieber auf, abhängig von der Art des Endotoxins, des Tierstammes und der Dosis. Mehrere Tierarten einschließlich der Ratten sollen mit Untertemperaturen reagieren (24). Die oben beschriebenen Folgen einer Endotoxingabe lassen sich auch durch eine Adrenalininjektion hervorrufen. Eine Anzahl von Forschern nehmen auch an, daß die starken vasomotorischen Störungen, die einer Endotoxingabe folgen, durch Sensibilisierung des sympathischen Nervensystems auf Adrenalinausschüttung bedingt sein könnten.

B. P R O B L E M S T E L L U N G

Vorliegende Arbeit wurde im Rahmen einer größeren Untersuchungsreihe angefertigt, die die Erforschung des Lipoidstoffwechsels in der Rattennebenniere zum Ziel hat.
Nach Verabreichung von Pyrifer, d. h. von pyrogenen Endotoxinen der Escherichia coli-Gruppe, hatten sich in diesem Organ erhebliche Änderungen der Fettsäurezusammensetzung ergeben, und es sollte geklärt werden, in welchem Maße die Blutfette daran ursächlich beteiligt sind. Als Versuchstiere standen mit einer vollwertigen Standartkost ernährte, sowie völlig fettfrei aufgezogene Tiere zur Verfügung. Letztere zeigten die für das Fehlen der essentiellen Fettsäuren charakteristischen Mangelsymptome in voller Ausprägung.

C. M E T H O D I K

Die vorliegende Untersuchung beschränkt sich auf die Auswertung von Gaschromatogrammen der Cholesterinester-Fettsäuremethylester bzw. von UV-Spektrogrammen der Phosphatid- und Triglyceridfettsäuremethylester , die aus dem Serum von Ratten zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion von 1000 E Endotoxin gewonnen worden waren. Experimentelle Einzelheiten siehe Eberhagen und Plette (25).

Bei der qualitativen und quantitativen Auswertung der Gaschromatogramme wurde in folgender Weise vorgegangen : die Identifizierung der einzelnen Banden auf den Chromatogrammen wurde durch Vergleich mit den Retentionszeiten bekannter Testgemische und mit Hilfe der sog. Kohlenstoffzahlen vorgenommen. Zur Reduzierung der Fehlermöglichkeiten bei der Auswertung ergab der Vergleich mit den Gaschromatogrammen der hydrierten Gemische die Zusammensetzung nach der Kettenlänge. Die weitere Aufschlüsselung nach dem Grad der Ungesättigtheit geschah aus den nativen Proben. Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit einer geometrischen Methode. Durch Anlegen von Grundlinie und Wendepunkttangenten an die einzelnen Banden wurden gleichschenklige Dreiecke konstruiert, deren Fläche dann nach der Formel $F = (g \times h) : 2$ berechnet wurde. Die

Summe der Flächeninhalte wurde gleich 100 % gesetzt und daraus der Anteil der einzelnen Komponenten berechnet. Da die einzelnen Fettsäuren bei dieser Methode nicht mit gleicher Empfindlichkeit angezeigt wurden, war die Berichtigung der Flächeninhalte durch empierisch gewonnene Korrekturfaktoren notwendig.

Die Auswertung der UV-Spektrogramme wurde nach den Angaben von Leupold und Eberhagen (26) durchgeführt. Die qualitative Feststellung erfolgte über die spezifischen Extinktionen von Eichsubstanzen. Die quantitative Auswertung der Spektrogramme wurde auf Grund folgender Beziehungen vorgenommen :

$$E_\lambda = E_{\lambda_1} + E_{\lambda_2} + \ldots . E_{\lambda n} = \sum_1^n E_{\lambda n}$$

$$= e_{\lambda_1} \times c_1 + e_{\lambda_2} \times c_2 + \ldots . e_{\lambda n} \times c_n = \sum_1^n e_{\lambda n} \times c_n$$

Es bedeuten : E = gemessene Gesamtextinktion bei der Wellenlänge λ

e = spezifischer Extinktionskoeffizient der Substanzen 1 bis n bei der Wellenlänge λ

c = die entsprechenden Konzentrationen.

Die Konzentrationen im Fettsäuregemisch lassen sich demnach folgendermaßen berechnen :

$$E_{234} = 100 \times c_2 + 485 \times c_3 + 525 \times c_4 + 555 \times c_5 + 455 \times c_6$$

$$E_{268} = 835 \times c_3 + 540 \times c_4 + 560 \times c_5 + 405 \times c_6$$

$$E_{300} = 755 \times c_4 + 635 \times c_5 + 380 \times c_6$$

$$E_{346} = 750 \times c_5 + 375 \times c_6$$

$$E_{374} = 240 \times c_6$$

$\% C_6 = 4,166_{E\ 374}$

$\% C_5 = 1,333_{E\ 376} - 2,082_{E\ 374}$

$\% C_4 = 1,324_{E\ 300} - 1,120_{E\ 346} - 0,345_{E\ 374}$

$\% C_3 = 1,197_{E\ 268} - 0,854_{E\ 300} - 0,169_{E\ 346} - 0,402_{E\ 374}$

$\% C_2 = 1,0_{E\ 234} - 0,580_{E\ 268} - 0,281_{E\ 300} - 0,070_{E\ 346} - 0,365_{E\ 374}$

D. E R G E B N I S S E

1. bei Normaltieren :

In Abbildung 1 und Tabelle 1 ist das Verhalten der Serumkonzentrationen der Gesamtlipoide und deren Cholesterinester-, Triglycerid- und Phosphatidfraktionen nach der Endotoxininjektion aufgezeigt. Bei den Gesamtlipoiden findet sich ein initialer Abfall um etwa ein Viertel des Ausgangswertes während der ersten sechs Stunden, worauf ein biphasischer Anstieg erfolgt, ohne daß jedoch der Kontrollwert erreicht wird.

Die Serumkonzentration der Cholesterinester ändert sich in den beiden ersten Stunden kaum; sie fällt dann bis zur 6. Stunde auf ihre Minimalkonzentration ab, erreicht zur 12. Stunde fast wieder den Ausgangswert und sinkt mit geringen Schwankungen bis zum 96 - Stundenwert etwas ab.

Die Triglyceridserumkonzentration nimmt in den ersten sechs Stunden um fast die Hälfte des Ausgangswertes ab; sie steigt dann ab der 12. Stunde kontinuierlich bis zur 48. Stunde, wonach sie ungefähr auf diesem Niveau bleibt.

Die Phosphatidserumkonzentration sinkt ebenfalls wie die der Triglycerid in den ersten beiden Stunden steil ab, erreicht aber ihre Minimalkonzentration erst zur 12. Stunde. Danach ändert sich die Konzentration nur noch gering.

Die Auftrennung der Cholesterinester (siehe Abb. 2 und Tab. 2) zeigt, daß sie sich vor allem aus den Fettsäuren

Arachidon-, Linol- und Ölsäure zusammensetzen. Die Serumkonzentrationen dieser drei Fettsäuren weisen in den ersten 12 Stunden die gleichen Schwankungen auf, wie die Cholesterinesterfraktion. Ab der 12. Stunde nehmen außer der Arachidonsäure die Serumkonzentrationen aller Fettsäuren ab. Zur 96. Stunde fallen die Arachidon- und Linolsäurekonzentrationen noch einmal stark ab, während die der Ölsäure auf fast das Doppelte wieder ansteigt.

Das Verhalten der Serumkonzentrationen der Phosphatidfettsäuren ist in Tabelle 3 und Abbildung 3 dargestellt. Die 48-Stundenwerte fehlen. Die höchste Konzentration zeigen die Diensäuren. Die Konzentrationsänderung der Diensäuren und der anderen Fettsäuren entsprechen der Konzentrationsänderung der Phosphatide. Eine Ausnahme macht die Arachidonsäure. Sie sinkt zwar ebenfalls bis zur 2. Stunde ab, steigt dann aber zur 12. Stunde auf fast das Doppelte an und bleibt auch bis zur 96. Stunde über dem Kontrollwert.

Die Serumkonzentrationen der Triglyceridfettsäuren zeigen recht unterschiedliche Veränderungen (Tab. 4 und Abb. 4). Die Konzentrationen der Diensäuren fallen initial steil ab bis zur Minimalkonzentration nach 12 Stunden und steigen dann zur 96. Stunde über den Kontrollwert hinaus an. Die Tetraensäuren weisen zum 12-Stundenwert ihre Minimalkonzentration auf. Bei den Triensäuren fällt die Serumkonzentration zur 2. Stunde auf fast die Hälfte ab und bleibt etwa auf dieser Höhe. Nur die Hexaensäurenkonzentration steigt zur

2. Stunde an; sie fällt anschließend bis zur 96. Stunde auf Null Milligrammprozent ab.

2. Ergebnisse bei Mangeltieren :

Die Kontrollwerte der Serumkonzentrationen der Gesamtlipoide- und deren Cholesterinester-, Triglycerid- und Phosphatidfraktionen liegen im gleichen Bereich, wie die der Normaltiere. Die Gesamtlipoidkonzentration weist einen initialen Abfall und anschließenden biphasischen Verlauf auf. Die Lipoidfraktionen zeigen allerdings nur ein monophasisches Verhalten ihrer Serumkonzentrationsänderung. Die Phosphatid- und die Cholesterinesterkonzentrationen verhalten sich gleichartig mit einem Minimum zum 2-Stundenwert und folgendem Anstieg zum 24-Stundenwert. Die Triglyceridkonzentration vermindert sich bis zur 12. Stunde um mehr als die Hälfte und steigt dann bis zur 96. Stunde wieder an.
Die Auftrennung der Cholesterinester zeigt bei den Mangeltieren wesentlich andere Verhältnisse auf als bei den Normaltieren. Die Arachidonsäure weist eine fast zehnfach geringere Konzentration auf. Die Ölsäure erreicht bei den Mangeltieren die doppelte Konzentration. Das Verhältnis Eikosatrien-/ Eikosatetraensäure liegt bei 5.
Die Auftrennung der Phosphatide ergibt ebenfalls andere Konzentrationen als bei den Normaltieren. Die Di-, Tetra-, Penta- und Hexaensäuren sind vermindert. Die Triensäuren sind auf das Zweieinhalbfache erhöht. Alle Fettsäuren zeigen

einen anfänglichen Abfall der Serumkonzentration. Leider sind die Kontroll- und 2-Stundenwerte der Triglyceridfettsäuren verloren gegangen, so daß auf eine Auswertung der weiteren Ergebnisse verzichtet wurde.

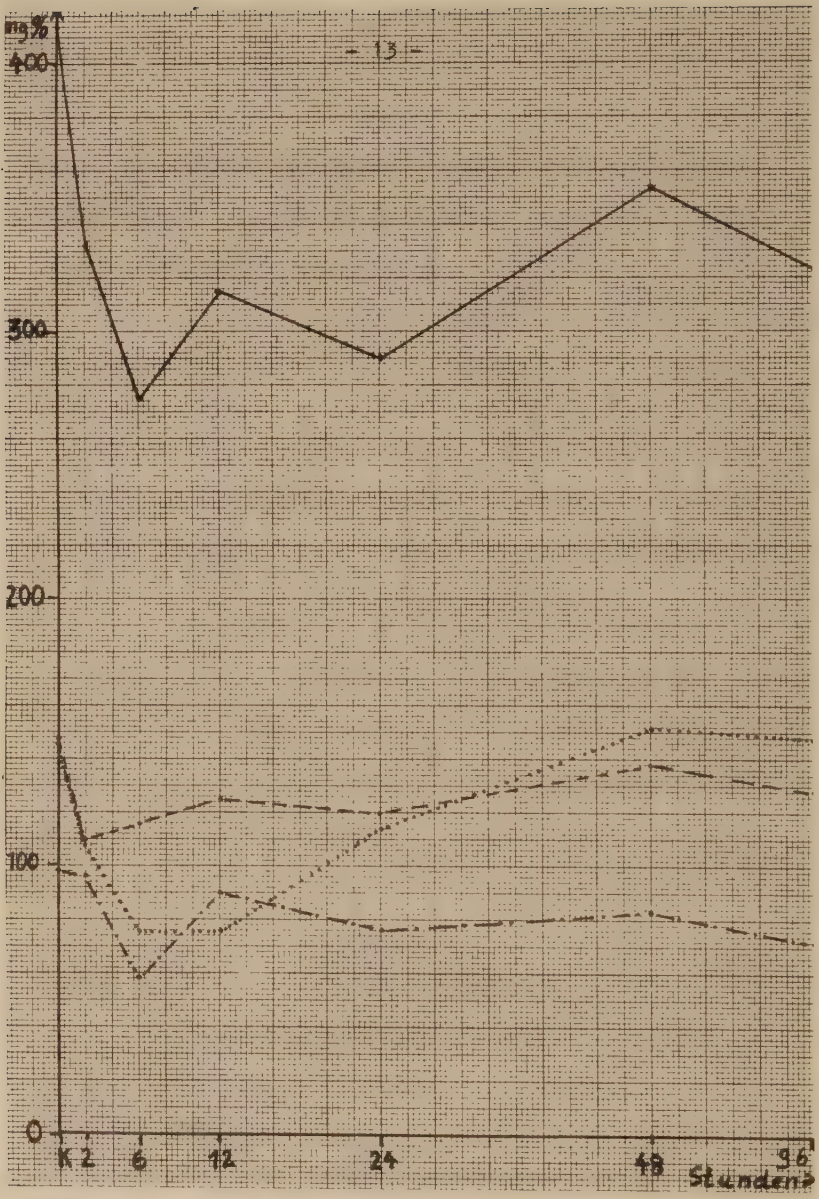

Abb.1: Das Verhalten der Serumkonzentrationen der Gesamtlipoide(——), der Phosphatide(---), der Cholesterinester(-·-) und der Triglyceride(···) bei Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Gesamtlipoide (mg%)	414	332	275	316	290	353	322
Phosphatide (mg%)	148	110	117	125	100	118	108
Cholesterinester (mg%)	99	96	56	90	75	83	72
Triglyceride (mg%)	147	108	76	76	95	132	127

Tabelle 1 : Die Konzentration der Gesamtlipoide, Phosphatide, Cholesterinester und Triglyceride im Serum von Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K).

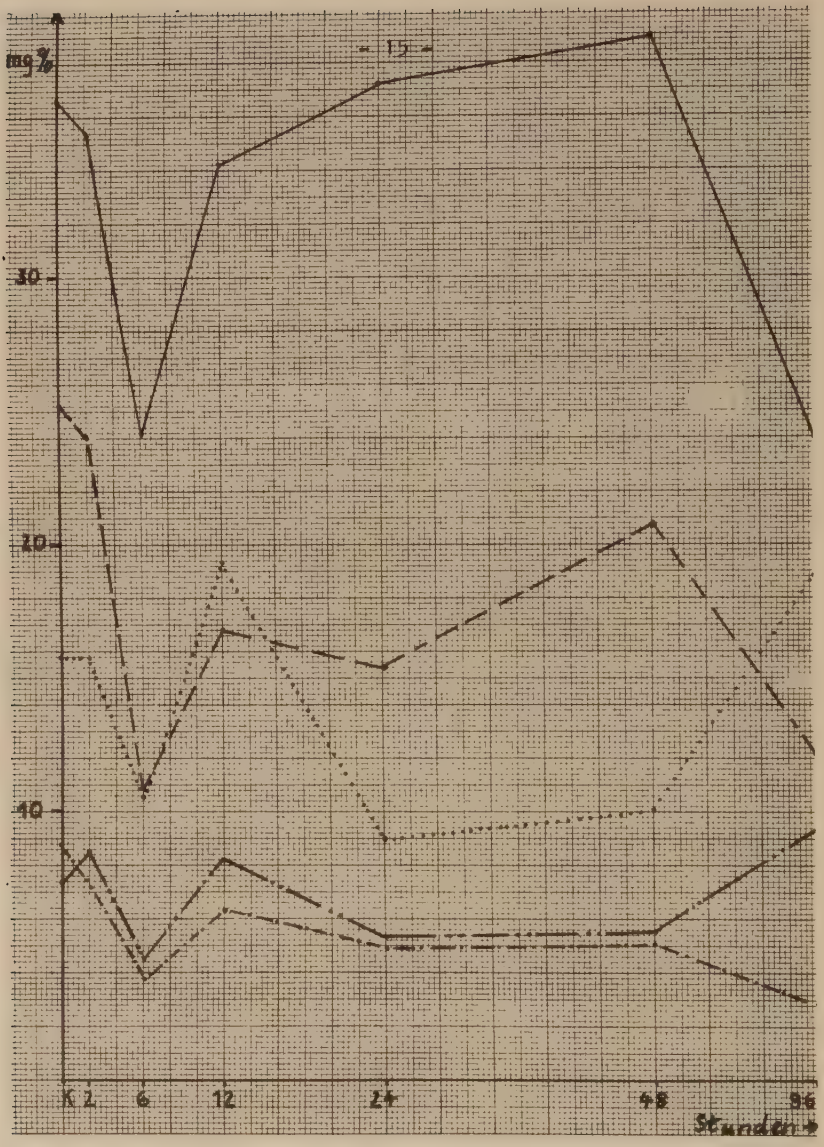

Abb.2: Der Gehalt der Cholesterinesterfettsäuren Myristin-(-·-), Palmitin-(-···), Öl-(···), Linol-(---) und Arachidonsäure(——) im Serum von Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Fettsäuren (mg%)							
14:0	8,9	7,2	3,8	6,3	4,9	5,0	2,9
16:0	7,4	8,6	4,4	8,1	5,3	5,4	9,4
16:1	2,5	2,4	3,5	4,1	2,3	1,7	2,2
18:0	1,0	1,9	0,9	0,9	0,8	0,8	2,2
18:1	15,8	15,8	10,6	19,4	9,0	10,0	18,7
18:2	25,2	24,0	10,9	16,7	15,4	20,8	12,2
18:3	1,0	1,0	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4
20:4	36,6	35,4	24,2	34,2	37,1	39,0	24,1

Tabelle 2 : Konzentration der Cholesterinesterfettsäuren im Serum von Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K).

Im einzelnen steht das Symbol:

14:0 für Myristinsäure 16:0 für Palmitinsäure

16:1 für Palmitoleinsr. 18:0 für Stearinsäure

18:1 für Ölsäure 18:2 für Linolsäure

18:3 für Linolensäure 20:4 für Arachidonsäure

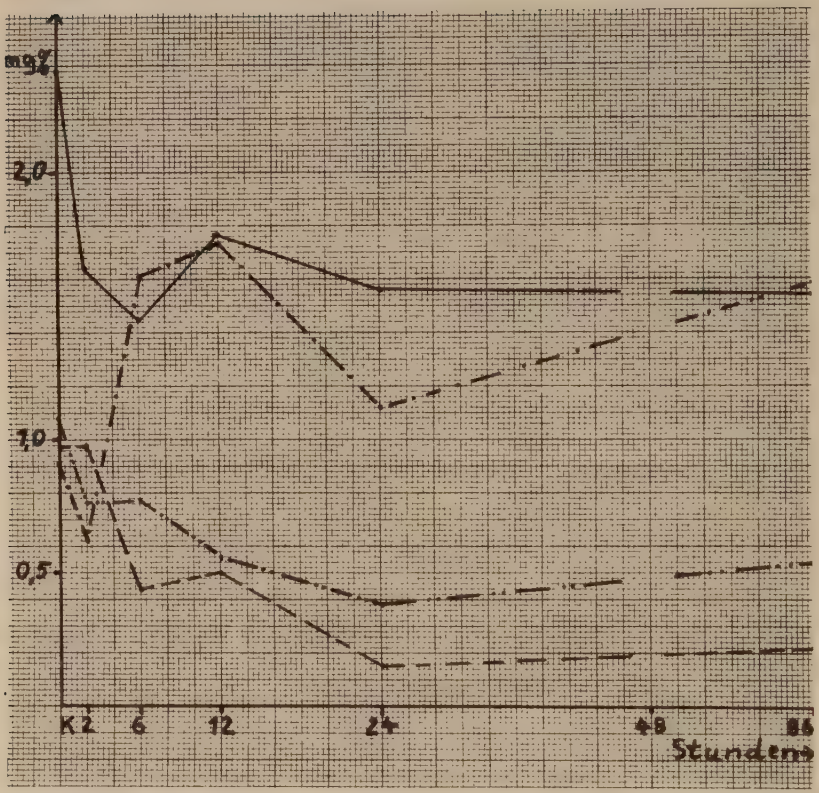

Abb.3: Der Gehalt der Hexaen-(-•••-), der Tetraen-(-••-), der Trien-(---) und der Dienfettsäuren(——) der Serumphosphatide bei Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Fettsäuren (mg%)							
C_6	1,09	0,76	0,77	0,55	0,39	0,19	0,55
C_5	0,08	0,03	0,03	0,06	0,06	0,06	0,08
C_4	0,91	0,62	1,60	1,74	1,12	0,48	1,57
C_3	0,99	0,98	0,44	0,50	0,15	2,80	0,21
C_2	2,38	1,64	1,45	1,77	1,56	0,82	1,55

Tabelle 3 : Konzentration der Phosphatidfettsäuren im Serum von Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K). Es bedeuten die Symbole :

C_6 = Hexaensäuren C_5 = Pentaensäuren

C_4 = Tetraensäuren C_3 = Triensäuren

C_2 = Diensäuren

In erster Annäherung entsprechen die Hexaensäuren der Dokosahexaensäure, die Pentaensäuren einem Gemisch von Eikosa- und Dokosapentaensäure im Verhältnis 1:1, die Tetraensäuren der Arachidonsäure und die Diensäuren der Linolsäure.

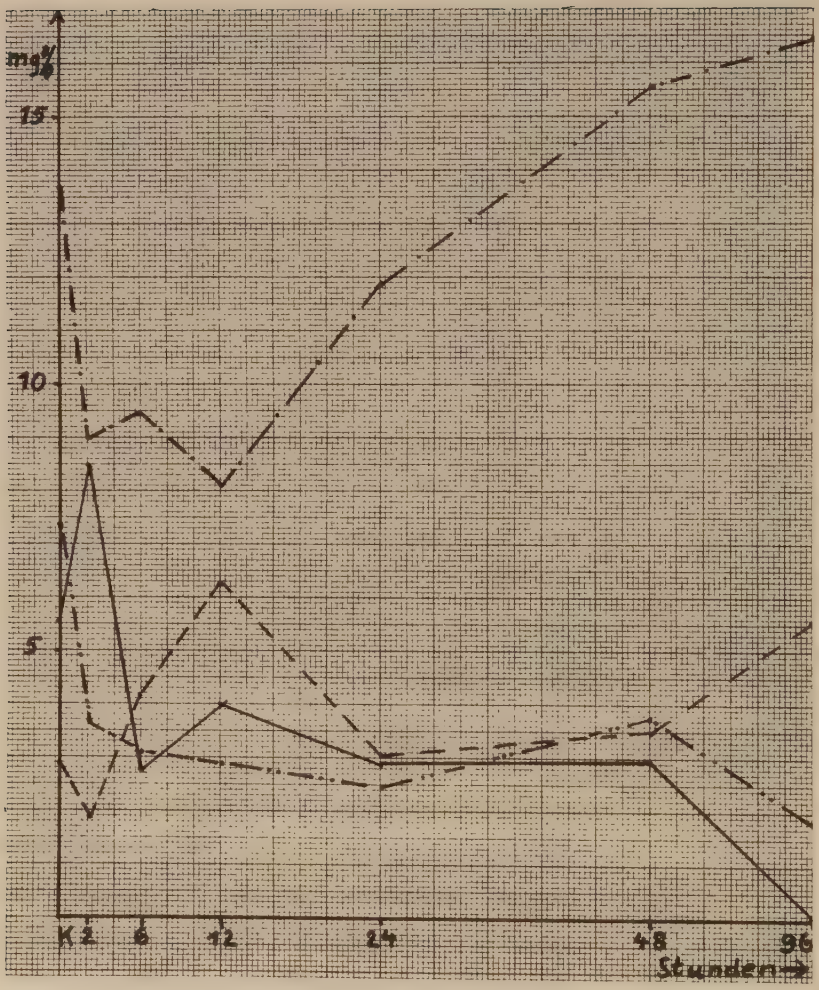

Abb.4: Der Gehalt der Hexaen-(——), der Tetraen-(--), der Trien-(-··-) und der Dienfettsäuren(-·-) der Serumtriglyceride bei Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Fettsäuren (mg%)							
C_6	5,54	8,46	2,74	4,05	2,86	2,94	0,00
C_5	0,12	0,14	0,13	0,00	0,26	0,04	0,00
C_4	2,92	1,93	4,20	6,24	2,99	3,48	5,54
C_3	7,39	3,76	3,05	2,99	2,39	3,71	1,86
C_2	13,67	9,06	9,47	8,10	11,86	15,53	16,48

Tabelle 4 : Konzentration der Triglyceridfettsäuren im Serum von Normaltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K). Erklärung der Symbole C_6 - C_2 siehe Tabelle 3.

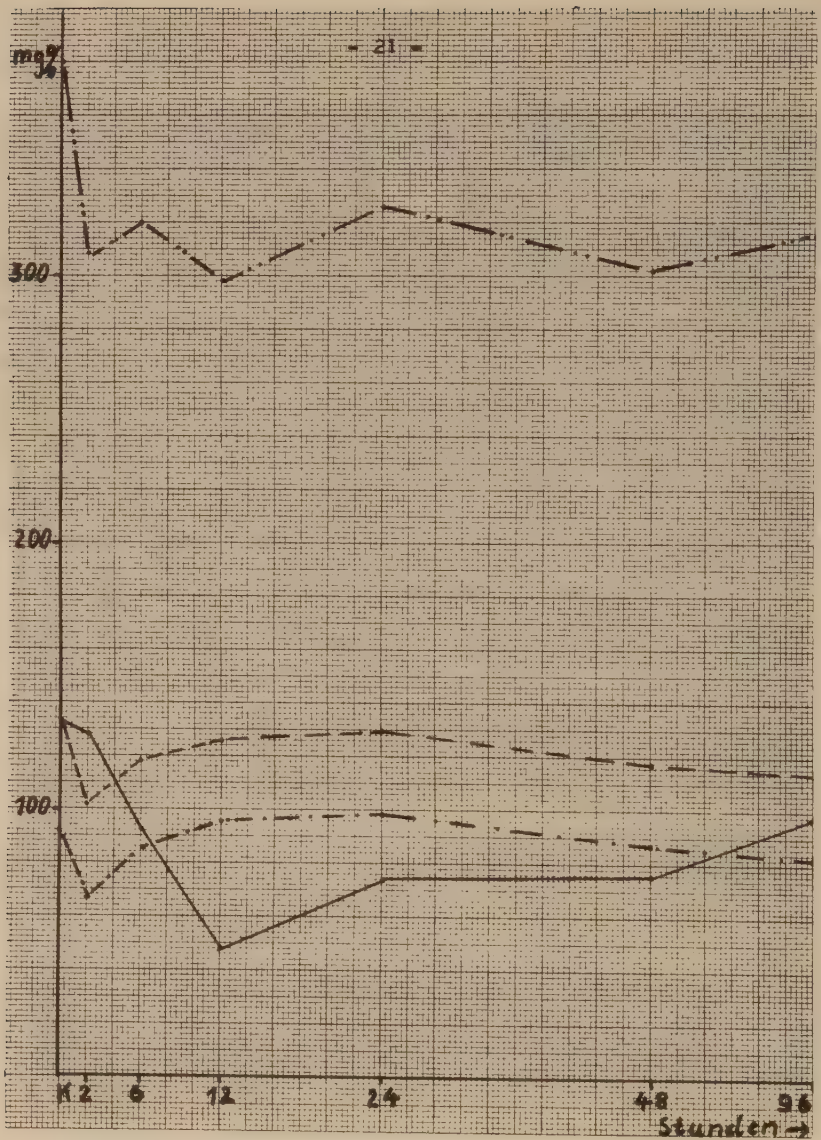

Abb.5: Der Gehalt der Gesamtlipoide(-·-·-), der Cholesterinester(-··-), der Phosphatide(---) und der Triglyceride(——) im Serum von Mangeltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Gesamtlipoide (mg%)	380	309	320	298	326	303	315
Phosphatide (mg%)	135	101	119	126	129	119	114
Cholesterinester (mg%)	92	67	87	96	99	87	83
Triglyceride (mg%)	135	128	92	49	74	77	98

Tabelle 5 : Die Konzentration der Gesamtlipoide, Phosphatide, Cholesterinester und Triglyceride im Serum von Mangeltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K).

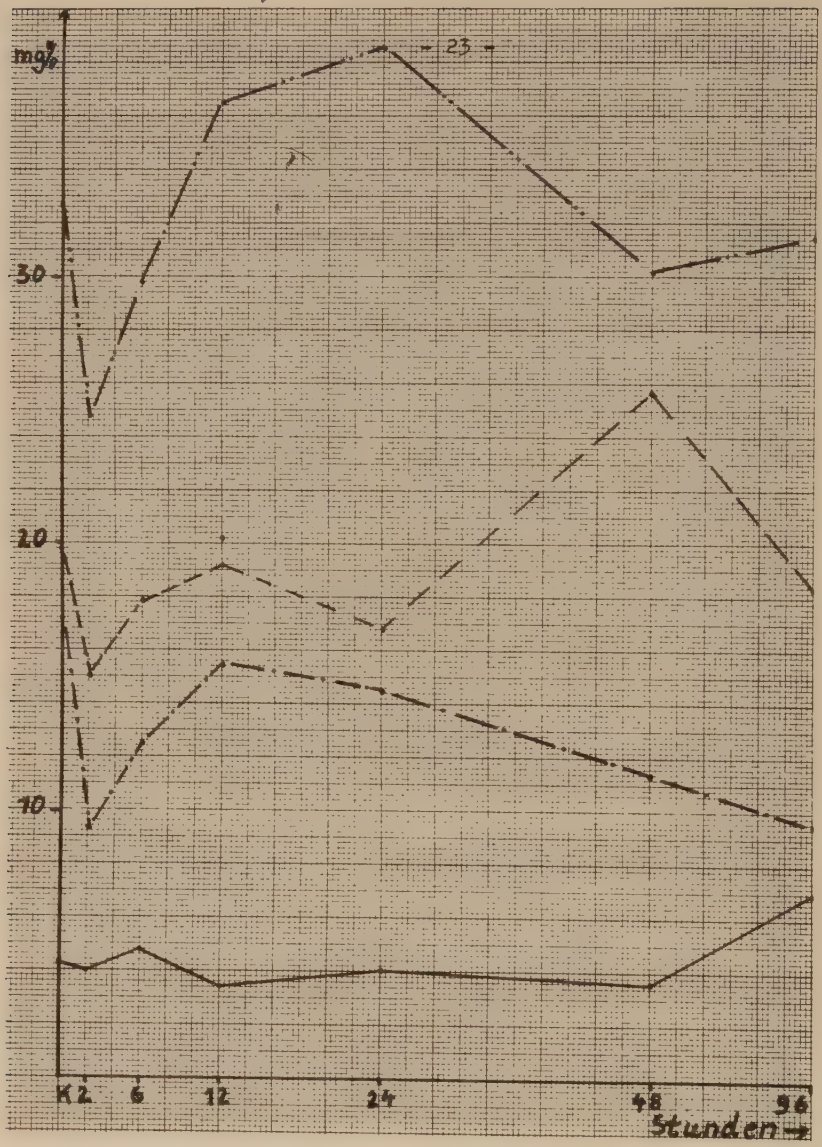

Abb.6: Der Gehalt der Arachidon-(——), der Öl-(-·-·-), der Palmitolein-(-··-) und der Eikosatrienfettsäure(--) der Serumcholesterinester bei Mangeltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Fettsäuren (mg%)							
14:0	4,1	5,0	8,7	7,7	11,4	1,7	5,0
16:0	6,4	3,7	4,4	7,2	5,9	4,4	4,6
16:1	17,0	9,4	13,1	15,4	14,4	11,3	9,5
18:0	0,9	1,0	1,3	1,4	1,0	1,3	1,2
18:1	32,7	24,8	29,1	36,5	38,6	30,9	31,5
18:2	4,6	2,3	4,8	3,4	4,0	4,8	3,3
18:3	2,3	1,7	3,0	1,9	3,0	3,5	2,6
20:3	19,8	15,0	17,8	19,2	16,8	25,7	18,3
20:4	4,1	4,0	4,8	3,3	4,0	3,5	7,0

Tabelle 6 : Konzentration der Cholesterinesterfettsäuren im Serum von Mangeltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K). Erklärung der Symbole 14:0 bis 20:4 in Tabelle 2.

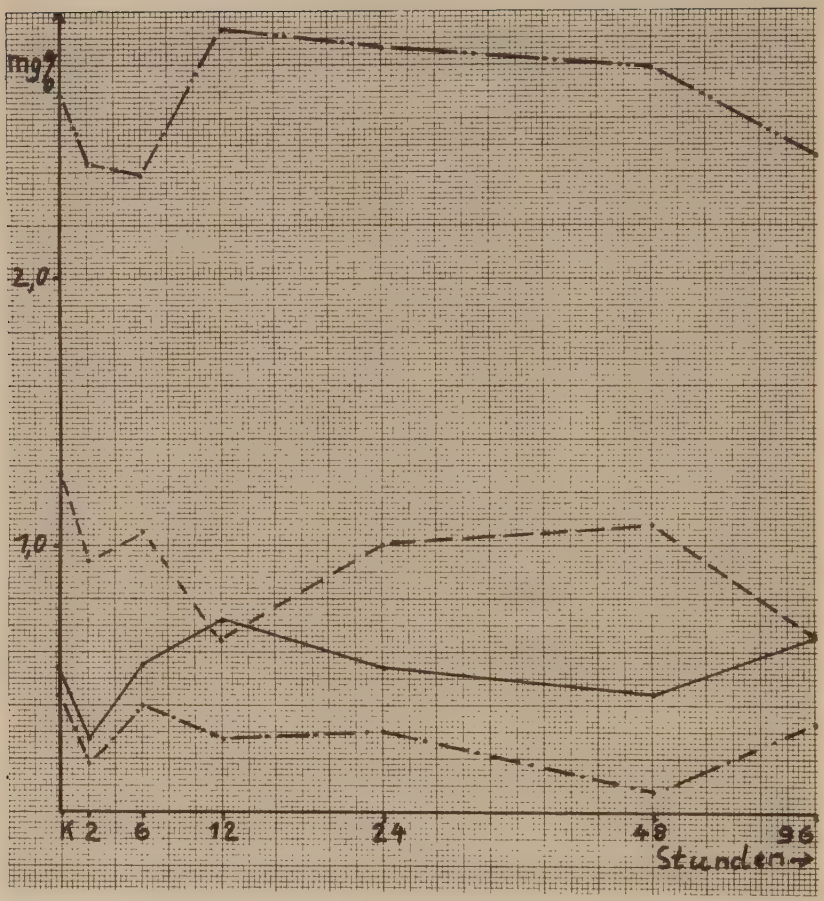

Abb.7: Der Gehalt der Dien-(--), der Trien-(-·-·-), der Tetraen-(——) und der Hexaenfettsäuren(-·-) der Serumphosphatide bei Mangeltieren in Abhängigkeit von der Zeit (K = Kontrollwert).

Stunden nach der Injektion	K	2	6	12	24	48	96
Fettsäuren (mg%)							
C_6	0,44	0,18	0,40	0,28	0,30	0,08	0,33
C_5	0,00	0,02	0,01	0,05	0,01	0,05	0,08
C_4	0,55	0,28	0,55	0,72	0,54	0,45	0,66
C_3	2,68	2,43	2,39	2,93	2,87	2,69	2,46
C_2	1,27	0,94	1,05	0,65	1,00	1,10	0,66

Tabelle 7 : Konzentration der Phosphatidfettsäuren im Serum von Mangeltieren in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion von 1000 E Endotoxin und bei Kontrolltieren (K). Erklärung der Symbole C_6 - C_2 in Tabelle 3.

E. D I S K U S S I O N

1. Diskussion der Ergebnisse bei Normaltieren :

Die Endotoxininjektion bei Normaltieren bedingt einen Abfall der Gesamtlipoidkonzentration im Serum um mehr als 25 % zum 6-Stundenwert. Allerdings liegt der Kontrollwert über dem Normalbereich (6). Der nach 6 Stunden einsetzende Wiederanstieg der Gesamtlipoide ist sicherlich Ausdruck der anlaufenden Lipoidsynthese in der Leber, da nach Kattermann (27) es durch eine absinkende Lipoidkonzentration im Blut zur Beschleunigung der Lipoidsynthese,insbesondere in der Leber kommt, die ja die Hauptquelle der endogenen Blutlipoide bildet (28, 4).

Inwieweit Wasserverschiebungen zwischen dem Intravasalraum und dem Extravasalraum berücksichtigt werden müssen, ist bei diesen Untersuchungen nicht zu sagen. Ob das biphasische Verhalten der Gesamtlipoide einem biphasischen Fieber entspricht, kann nicht diskutiert werden, da keine Temperaturmessungen bei den Ratten vorgenommen wurden.

Die Schwankungen der Serumkonzentrationen der drei Gesamtlipoidfraktionen Triglyceride, Phosphatide und Cholesterinester zeigen, daß diese Fraktionen an den ablaufenden Stoffwechselvorgängen im Anschluß an eine Streßauslösung z. B. durch die Endotoxininjektion in irgendeiner Weise teilnehmen. Genauere Aussagen darüber, wohin diese Fraktionen abwandern

und an welchen Reaktionen sie teilhaben, können durch diese Untersuchung nicht gemacht werden, außer daß die Abwanderung ins Gewebe für die Phosphatide zur 2. Stunde am größten ist, für die Cholesterinester um die 6. Stunde und fürdie Triglyceride zwischen 6. und 12. Stunde. Nur bei den Cholesterinestern legt der Vergleich der Serum- und der Nebennierenkonzentrationen, die bei dieser Versuchsreihe ebenfalls untersucht wurden (15), nahe , daß die Serumcholesterinester in die Nebenniere abwandern. Dort findet sich genauso wie im Serum ein Abfall der Cholesterinesterkonzentration zur 2. Stunde mit einem Minimum zur 6. Stunde.Damit würde auch Cholesterin der Serumcholesterinester, nach Hydrolysierung in der Nebenniere und Neuveresterung zu aktiven Cholesterinesterverbindungen, für die Kortikoidsynthese zur Verfügung stehen.

Das Fettsäuremuster der Serumcholesterinester zeigt, daß die Arachidonsäureester die höchste und die Linolsäureester die zweithöchste Konzentration aufweisen.Dieser Befund entspricht den Feststellungen von Swell und Mitarbeitern (3 0), der fand, daß von den in der Leber gebildeten Cholesterinestern selektiv die polyensäurehaltigen ins Blut abgegeben werden, und daß diese Cholesterinester sowohl in der Leber wie im Serum einem weit höheren Stoffwechselumsatz unterliegen als die gesättigten und einfach ungesättigten. Damit entspricht dieser Befund auch den Vorstellungen, die in dem Cholesterinarachidonat und -dokosatetraenat die aktive Form

des Cholesterins bei der Synthese der Gallensäuren und der Nebennierenrindenhormonen sehen (11,12,13,14,). Die Fettsäurezusammensetzung der Cholesterinester im Serum ähnelt der der Nebennieren insofern, als dort die um eine C_2-Einheit verlängerten Polyenfettsäuren, nämlich die Dokosatetraen- und die Arachidonsäure, in etwa gleicher Konzentration vorkommen. Inwieweit die Serumlinol- und Serumarachidonsäurecholesterinester tatsächlich Stoffwechselvorläufer der aktiven Nebennierencholesterine, das sind wahrscheinlich die Dokosatetraen- und Arachidonsäureester, sind, läßt sich mit dieser Untersuchung nicht feststellen.

Bei den Serumphosphatidpolyenfettsäuren interessieren vor allem die Konzentrationsänderungen der Arachidon- und der Linolsäureester nach einer Endotoxininjektion. Denn nach Eberhagen (32) kommt es bei Streßsituationen in der Nebenniere zu einem Austausch von weniger ungesättigten, nicht arachidonsäurehaltigen Ruhephosphatiden gegen arachidonsäurehaltige Funktionsphosphatide vor allem in den Mitochondrien und am endoplasmatischen Retikulum. Wahrscheinlich werden nicht nur in der Nebenniere, sondern in sämtlichen Organen, die einem vermehrten Stoffwechselumsatz unterworfen sind wie z. B. die Leber, diese Ruhephosphatide gegen Funktionsphosphatide ausgetauscht. Im Serum findet sich nun ein Abfall des Gehalts an Linolsäureestern mit einem Minimum zur 12. Stunde. Die arachidonsäurehaltigen Phosphatide nehmen zur 2 . Stunde etwas ab, ihr Gehalt steigt dann aber bis zur 12.Stunde auf über das Doppelte an. Zu erklären

wären diese Konzentrationsänderungen vielleicht durch eine Umwandlung von linolsäurehaltigen zu arachidonsäurehaltigen Phosphatiden in verschiedenen Organen, in denen auch vermehrt diese arachidonsäurehaltigen Funktionsphosphatide in Zellorganellen eingebaut werden. Dabei könnte es auch zu einer stärkeren Sekretion dieser Arachidonsäurephosphatide ins Blut gekommen sein.

Die Konzentrationsänderungen der Polyenfettsäureester der Serumtriglyceride lassen sich wohl zurückführen auf deren Funktionen als Energieträger und Reservebausteine. So kommt es in den ersten 12 Stunden zum Absinken des Linolsäureestergehaltes wahrscheinlich durch deren Verbrauch im ß-Oxidationszyklus und durch deren Umwandlung zu arachidonsäurehaltigen Estern, wodurch es dann wohl auch zur 12. Stunde zum Anstieg der Arachidonsäureester kommt. Warum allein die Hexaensäureester initial ansteigen, kann nicht diskutiert werden, da über deren Funktion keine Befunde vorliegen; interessant ist in diesem Zusammenhang jedoch, daß nur in der Nebenniere keine Hexaenfettsäuren vorkommen sollen (33).

2. Diskussion der Ergebnisse bei Mangeltieren :

Die Gesamtlipoide und die drei Lipoidfraktionen weisen im Serum ungefähr die gleichen Konzentrationen auf wie bei Normaltieren. Auch im zeitlichen Ablauf verhalten sie sich ähnlich wie bei Normaltieren. Im Unterschied zu den Konzentrationen in der Nebenniere von Mangeltieren findet sich kein wesentlich erhöhter Cholesteringehalt im Serum.
Bei den Cholesterinesterfettsäuren zeigen sich nun deutliche und Charakteristische Änderungen. In den Organen von fettfrei aufgezogenen Tieren finden sich typisch hohe Werte der Eikosatriensäuren und geringe Werte der Eikosatetraensäuren, sodaß der Koeffizient Eikosatrien-/ Eikosatetraensäure zum Teil weit über 1 liegt. Dieser Koeffizient ergibt im Serum den Wert 5. So wie sich in den Nebennieren von Ratten dieser Versuchsreihe nur geringfügige Änderungen der Cholesterinesterfettsäurenkonzentrationen ergaben (15), zeigen auch die Serumcholesterinesterfettsäuren nur geringe Schwankungen ihres Gehaltes.Bei den Fettsäureestern der Phosphatide findet sich wie in den Organen auch im Serum ein hoher Eikosatrien-und niedriger Eikosatetraengehalt. Wie bei den Polyenfettsäuren der Cholesterinester in der Nebenniere und im Serum erfolgen auch bei den Phosphatiden nur geringe Konzentrationsänderungen entsprechend der Annahme von Eberhagen (Habil. S. 146) und Fukuda (21), daß die Reaktion der Nebenniere der Mangeltiere auf alle Einwirkungen von außen nur in beschränktem Ausmaß und verlangsamt erfolgt.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Sprague-Dawley Ratten wurden 1000 E Endotoxin intraperitoneal injiziert. Es wurden zwei Gruppen untersucht : Normaltiere und fettfrei ernährte Mangeltiere. Die Konzentrationen der Serumcholesterinesterfettsäuren wurden gaschromatografisch bestimmt, die Konzentrationen der Serumphosphatid- und -triglyceidfettsäuren UV-spektrografisch.
2. Der Vergleich der Serum- und der Nebennierencholesterinesterkonzentrationen legt nahe, daß Cholesterin der Serumcholesterinester in der Nebenniere zur Kortikoidsynthese verwendet wird.
3. Das Fettsäuremuster der Serumcholesterinester weist für die Arachidonsäureester die höchste Konzentration auf. Dies ergänzt diejenigen Vorstellungen, die im Cholesterinarachidonat- und dokosatetraenat die aktiven Formen des Cholesterins bei der Synthese der Gallensäuren und der Kortikoide sehen.
4. Bei den Serumphosphatidpolyenfettsäuren kommt es zum Austausch von linolsäurehaltigen zu arachidonsäurehaltigen Estern. Das entspricht den Beobachtungen von Eberhagen, wonach bei Streßsituationen in der Nebenniere ein Austausch von weniger ungesättigten Ruhephosphatiden gegen arachidonsäurehaltige Funktionsphosphatide vor allem in den Mitochondrien und am endoplasmatischen Retikulum

erfolgt.

5. Auch im Serum von Mangeltieren findet sich ein charakteristisch hoher Quotient von Eikosatrien- zu Eikosatetraensäure. Als Ausdruck einer reduzierten Reaktionsmöglichkeit zeigen die Konzentrationen der Serumpolyenfettsäure - ester geringere Schwankungen als bei Normaltieren.

G. L I T E R A T U R

1.) KLENK,E.: Naturwissenschaften 41, 68 (1954)

2.) KLENK,E.: Experientia 17, 199 (1961)

3.) STOFFEL,W.: Naturwissenschaften 53,622 (1966)

4.) ECHLES,N.E.,TAYLOR,C.B.,CAMPELL,D.J.,GOULD,R.G.: J. lab. clin. Med. 46, 359 (1955)

5.) KAHLKE,W.: Fortschritte der Medizin 13, 518 (1965)

6.) GRIMMER,G.,GLASER,A.,OERTEL,H.,VOIGT,K.D. APOSTOLAKIS,M.: Z. physiol. Chem. 333, 232 (1963)

7.) AUSELL,G.B.,HAWTHORNE,J.N.: Phospholipids Elsevier publ. Co. Amsterdam-London-New York (1964)

8.) MARINETTI,G.V.,ERBLAND,J.,KOCHEN,J.,STOTZ,E.: J. biol. Chem. 233, 740 (1958)

9.) JURTSHUK,P. jr.,SEKUZU,I.,GREEN,D.E.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 6, 76 (1961)

10.)GREEN,D.E.,FLEISCHER,S.: Biochem. Biophys. Acta (Amst.) 70, 554 (1963)

11.)HIKASA,V.,NAGASE,M.,MURAOKA,R.: Proc. Symp. Chem. Physiol. Path. 3, 89 (1963)

12.)FUKUDA,M.: Arch. japan. Chir. 34, 529 (1965)

13.)MURAOKA,R.: Arch. japan. Chir. 34, 35 (1965)

14.)EBERHAGEN,D.: Habil.-Arbeit : "Untersuchungen zur Beeinflussung des Lipoidstoffwechsels in den Nebennieren von Ratten" (1966), München.

15.)BURR,G.O.,BURR,M.M.: J. Biol. Chem. 82, 345 (1929)

16.) BURR,G.O.: Fed. Proc. 1, 224 (1942)

17.) KLENK,E.,PFLÜGER,H.: Zschr. physiol. Chem. 355,187(1963)

18.) KLENK,E.,OETTE,K.: Zschr. physiol. Chem. 318,86 (1960)

19.) HOLMAN,R.T.: J. Nutr. 70, 405 (1960)

20.) AAES-JØRGENSEN,E.: Physiol. Res. 41, 1 (1961)

21.) FUKUDA,H.: Arch. japan. Chir. 34, 529 (1965)

22.) ATKINS,E.: "Pathogenesis of fever." Physiol. Rev. 40, 580 (1960)

23.) BURROWS,W.: Ann. Rev. Microbiol. 5, 181 (1951)

24.) OLITZKI,L.,AUINERY,S.,KOCH,P.K.: J. Immunol. 45,237(1942)

25.) EBERHAGEN,D.,PLETTE,G.: Z. physiol. Chem. 349,595(1968)

26.) LEUPOLD,F.,EBERHAGEN,D.: Klin. Wochenschrift 10, 484 (1958)

27.) KATTERMANN,R.: Z. physiol. Chem. 349, (1968)

28.) PAWAR,S.S.,TIDWELL,H.C.: Am. J. of Physiol. 231,(1967)

29.) EBERHAGEN,D.,PLETTE,G.,MAUCK,O.: Z. exper. Med. 145, 171 (1968)

30.) SWELL,L.,LAW,M.D.,FIELD jr.,TREADWELL,C.R.: J. Biol. Chem. 235, (1960)

31.) RÖMER,R.:Promotionsarbeit, München 1968 S. 19

32.) EBERHAGEN,D.: Fortschritte der Medizin 21,893 (1967)

33.) HERDENSTAM,C.G.: Acta med. scand. 166, 475 (1960)

Die vorliegende Arbeit wurde aus den im Isotopenlabor der Medizinischen Poliklinik der Universität München unter der Leitung von Priv. Doz. Dr. D. Eberhagen gewonnenen Ergebnissen erarbeitet.

Mein besonderer Dank gilt meinem " Doktorvater ", Herrn Priv. Doz. Dr. med. D. Eberhagen, für seine freundliche und lehrreiche Hilfe bei der Durchführung und Korrektur der Arbeit.

Mein sehr herzlicher Dank auch Frl. Plette und all den anderen, die mich stets zuvorkommend unterstützten.

L E B E N S L A U F

Am 21. Oktober 1945 wurde ich, Peter Christoph Römer, als dritter Sohn des Internisten Dr. Arno Römer und dessen Frau Anna, geb. Aleksiejew, in Lodz, Polen geboren.

1945 flüchtete meine Familie nach Endlhausen bei München, wo ich die Volksschule besuchte.

1955 trat ich in die Klenze Oberrealschule, München ein, an der ich 1964 die Reifeprüfung ablegte.

Im Herbst 1964 begann ich an der Universität München das Medizinstudium, das ich dort 1970 mit dem Staatsexamen abschloß. Anschließend war ich als Medizinalassistent am Städtischen Krankenhaus München-Harlaching bis Juli 1971 tätig.

Im Oktober 1970 heiratete ich die Assistenz-Ärztin Dr. Christa May.

Nach dreimoatiger Assistentenzeit bei einem Allgemeinarzt in Füssen wurde ich als wehrpflichtiger Arzt zum 2.11.71 zur Bundeswehr eingezogen.